BEITRAG ZU KLINIK, DIAGNOSTIK UND THERAPIE DER VAGINALEN CANDIDOSIS

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Harald Becker

Saarbrücken

1973

1974

Aus der Fachrichtung Hygiene und Mikrobiologie der Universität des Saarlandes

BEITRAG ZUR KLINIK, DIAGNOSTIK UND THERAPIE DER VAGINALEN CANDIDOSIS

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1973

vorgelegt von
HARALD BECKER
geb. am 11. Mai 1944 in Kleve

Dekan: Prof. Dr. Jutzler
Referent: Prof. Dr. Schweisfurth

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Februar 1974

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG	4
2.	BEOBACHTUNGSGUT UND METHODIK	
2.1.	Ursachen und Symptome der Candidosis	10
2.2.	Mikrobiologische Diagnostik der Candidosis	13
2.3.	Testung der Antimykotika: Clodantoin, Benzalkoniumchlorid und Sporostacin(R)	17
3.	EXPERIMENTELLER TEIL	
3.1.	Klinik	20
3.2.	Diagnostik	20
3.3.	Testung der Antimykotika	24
4.	ERGEBNISSE	
4.1.	Klinik	25
4.1.1.	Häufigkeit des Auftretens von Candida-Kolpitiden in Abhängigkeit vom Alter	25
4.1.2.	Vergleich der Häufigkeit der Trichomonaden- und Candidakolpitiden in Abhängigkeit vom Alter	26
4.1.3.	Alter und Beschwerden von Patientinnen mit vaginaler Candidosis	27
4.1.4.	Altersverteilung von Patientinnen mit unklarer Vaginitis	27
4.2.	Diagnostik	29

Seite

4.2.1. Ergebnis der mikroskopischen Untersuchung 29

4.2.2. Ergebnis der Kulturuntersuchung 29

4.3. Ergebnis der Untersuchung mit Antimykotika 31

4.3.1. Röhrchenverdünnungstest mit Clodantoin 31

4.3.2. MHK von Clodantoin in Abhängigkeit vom pH-Wert 33

4.3.3. Röhrchenverdünnungstest mit Benzalkoniumchlorid 34

4.3.4. Röhrchenverdünnungstest mit Clodantoin und Benzalkoniumchlorid 35

4.3.5. MHK von Sporostacin(R) 37

5. DISKUSSION

5.1. Klinik 40

5.2. Diagnostik 43

5.2.1. Mikroskopische Untersuchungen 43

5.2.2. Kulturuntersuchung 44

5.3. Testung der Antimykotika Clodantoin, Benzalkoniumchlorid u. Sporostacin(R) 47

6. ZUSAMMENFASSUNG 50

7. ANHANG 53

8. LITERATURVERZEICHNIS 58

1. EINLEITUNG

Die Schleimhautoberfläche der natürlichen Körperhohlräume des Menschen ist mit zahlreichen Mikrobenarten besiedelt. Viele dieser Mikroorganismen haben saprophytären Charakter. Ihr Verhalten reicht jedoch auch von fakultativer bis zu deutlich ausgeprägter Pathogenität. Unter physiologischen Bedingungen herrscht ein Gleichgewicht zwischen den einzelnen Partnern der Biozönose. Im Falle einer Störung dieses Gleichgewichtes, besonders dann, wenn einige a priori nicht pathogene Mikroben überhandnehmen, kommt es zu Krankheitserscheinungen (5).

Die Scheidenflora besteht aus einer artenreichen Biocönose, die in Abhängigkeit von inneren und äußeren Faktoren in ihrer Zusammensetzung variabel ist. Ihr können Bakterien, Protozoen und Pilze angehören (5).

Mit Beginn der Einführung der Antibiotika erhielten die früher meist als harmlos angesehenen "Soorerreger" der Hefegattung Candida zunehmende klinische Bedeutung. 1945 wurde zum erstenmal eine Hefeinfektion der Mundhöhle mit einer zuvor durchgeführten Penicillinbehandlung in Zusammenhang gebracht (15), und es erschienen Veröffentlichungen, die über generalisierte Hefeinfektionen nach längerer Anwendung von Sulfonamiden, und / oder Penicillin berichteten (25, 95).

1949 gelang der erste experimentelle Nachweis einer Wachstumszunahme von Pilzen nach Antibiotikagaben (10). Ebenso wurde erhöhte Letalität nach Candida albicans-Infektion bei mit Penicillin behandelten Hühnerembryonen gefunden (22). 1952 wurden die Ärzte in Leitartikeln (19-21, 71) und von dem "Rat für Pharmazie und Chemie" der American Medical Association (92) vor den Gefahren der Superinfektion mit resistenten Keimen, zu denen Candida albicans und andere Hefen gerechnet wurden, nach antibakterieller Behandlung, vor allem mit Breitspektrum-Antibiotika, gewarnt. Neben Störungen des Gleichgewichtes in der Schleimhautflora mit anschließender Hefevermehrung wird eine Therapieresistenz oder Resistenzsteigerung der Pilzstämme in wachsender Zahl gegenüber den bisher gebräuchlichen Mitteln bzw. eine Beeinflussung der Empfindlichkeit des Wirtes, die durch die Behandlung mit Breitspektrum-Antibiotika bedingt sein soll, angenommen (45, 53, 56, 64, 65, 66, 81, 82, 85).

Von 1953 an wurde häufig beobachtet, daß sich nach der Therapie mit Breitspektrum-Antibiotika heftiger Pruritus vulvae entwickelte, der durch Candida albicans verursacht worden war (2, 28, 30, 50, 51, 54). Vor der klinischen Anwendung der Antibiotika betrug das Verhältnis von Trichomonaden- zu Hefeinfektionen in der Praxis ungefähr 4 : 1. Acht Jahre später hatte sich dieses Verhältnis von 4 : 1 nach 1 : 3 zugunsten der Hefen bei gleichbleibender Zahl der Trichomonadenkolpitiden verschoben (43). Insgesamt soll sich das Vorkommen einer

Candidosis je nach Untersuchungsmaterial von 1948 - 1956 bis um das Achtfache, im Durchschnitt um das Vierfache vermehrt haben (47). 1957 betrug bereits das Verhältnis von Candida- zu Trichomonadenfluor bei Nichtschwangeren 7 : 1 und bei Schwangeren 15 : 1 (63). 1958 wurde berichtet, daß sich die Kinder von 83 % der Mütter mit Hefevaginitis eine Infektion der Nasen- und Mundschleimhaut wahrscheinlich während der Geburt zugezogen hatten (8). De Gavaller (17) fand bei 25 % von 288 Autopsien bei Neugeborenen (Alter 3 bis 67 Tage) hefebedingte Krankheitsherde, die in 14 % der Fälle die Todesursache darstellten. In Frankreich wiesen 1955 mehrere Autoren (24) daraufhin, daß sich bei 24,6 % der unter Antibiotikatherapie stehenden Patientinnen eine Candida-Vaginitis entwickelt hatte. Dagegen waren Hefeinfektionen bei Frauen ohne diese Behandlung wesentlich seltener (2,4 %) zu beobachten gewesen (24). Weiter zeigte sich, daß nicht nur die Haut- und Schleimhautmanifestationen, sondern auch generalisierte Mykosen bis zur foudroyanten Soorsepsis mit Befall von Niere, Gehirn, Leber, Lungen, Blutgefäßen, Milz, Schilddrüse u.s.w. mit meist tödlichem Verlauf zugenommen hatten (30).

Das durch Hefen verursachte Krankheitsbild ist außerordentlich vielfältig, je nachdem ob sie primär oder aber sekundär an ihrer Entstehung beteiligt sind. Es kann daher für den behandelnden Arzt schwierig oder sogar unmöglich sein, eine exakte Diagnose allein nach dem klinischen Erscheinungsbild zu stellen. Die Untersuchung auf das Vorliegen einer Mykose muß makroskopisch, an Hand des klinischen Aspektes, mikroskopisch und mit Hilfe einer Kultur der Pilze auf entsprechenden Medien durchgeführt

werden. Aus der zunehmenden Bedeutung der vaginalen Candidosis ergibt sich der Zwang zu einer schnellen, sorgfältigen, aber auch einfachen Bestimmung der Hefen.

Es lag daher nahe, nach einer Möglichkeit zu suchen, um den komplizierten und zeitraubenden Untersuchungsgang der selektiven Anzüchtung von Hefen und ihrer nachfolgenden Differenzierung abzukürzen. Es wurden Medien entwickelt, die es erlauben, Arten der Gattung Candida oder auch Cryptococcus neoformans anhand der auf solchen Medien beim Wachstum stattfindenden Verfärbung der Kolonien nachzuweisen. 1953 beschrieb Nickerson (58) ein Medium, das durch braungefärbte Kolonien die Anwesenheit der Gattung Candida anzeigte.

Die Therapie der Mykosen erweist sich häufig als langwierig und in ihrem Erfolg unbefriedigend. Nicht selten wird ein Wiederauftreten des Soors nach vorausgegangener erfolgreicher antifungaler Behandlung beobachtet. Hierbei handelt es sich meist um Reinfekte, die besonders vom Darm als Infektionsquelle ihren Ausgang nehmen (68, 90). Etwa 20 % der Ehemänner von Frauen mit Candida-Kolpitis leiden an einer Balanitis candidamycetica, die durch Pingpong-Effekt übertragen worden ist.

Die Zahl der natürlich vorkommenden und synthetisch dargestellten Antimykotika ist in den letzten Jahren stark angestiegen. Für die durch Candida albicans bedingten Mykosen ist auch heute noch die Lokalbehandlung die Methode der Wahl, wenn von der granulomatösen Candidosis abgesehen wird. Die wichtigsten Verbindungsklassen mit fungistatischer Wirkung (34) sind: Phenole und Phenolderivate,

aliphatische und aromatische Carbonsäuren, aromatische Sulfide und Sulfone, 8-Oxychinolin und Derivate, Farbstoffe wie Brillantgrün, Malachitgrün, quaternäre Amonium-, Phosphonium- und Arsoniumbasen, Thiadiazinderivate und Antibiotika, z.B. Nystatin, Pimaricin, Amphothericin B und Candicin.

1952 fand Kittleson (35), daß das Produkt aus der Reaktion von Perchlormethyl-mercaptan mit Alkalimetallsalzen von Imiden und Amiden, eine N-Trichlormethylthio-Verbindung, fungizide Wirkung besitzt. 1961 beschrieben Kupferberg und Doscher (40) eine dieser Verbindungen, 5-(1-Aethylamyl)-3-trichlormethylthiohydantoin, mit dem Trivialnamen Clodantoin, die sich als besonders wirksam gegen Candida albicans erwiesen hatte und im Tierversuch nur schwach toxisch war. In-vitro Versuche bestätigten die ausgeprägte antimycetische Aktivität gegenüber allen menschenpathogenen Hefen. Diese soll durch einen Synergismus mit quaternären Ammoniumverbindungen, wie z.B. Benzalkoniumchlorid, wesentlich gesteigert werden. Beide Wirkstoffe, Clodantoin und Benzalkoniumchlorid, sind in einer Vaginalcreme (Sporostacin$^{(R)}$) vereinigt.

Im Rahmen der Themastellung "Klinik, Diagnostik und Therapie der vaginalen Candidosis" wurden folgende Fragen untersucht:

1. Gelingt mit einem neuerdings im Handel befindlichen Differentialmedium eine sichere Diagnose von Candida-Arten?

2. Sind Clodantoin, Benzalkoniumchlorid
und die Kombination beider Substanzen
im in-vitro Test wirkungsvolle Antimykotika
und wenn, in welcher Konzentration?

3. Außerdem sollten beliebige Nebenbefunde
vermerkt und tabellarisch erfaßt werden.

2. BEOBACHTUNGSGUT UND METHODIK

2.1. Ursachen und Symptome der Candidosis:

Verschiedene pathogenetische Faktoren sollen den Übergang der Hefe von der saprophytären Phase zum Parasitismus induzieren (85):

A. Ektogene Faktoren:
- a) Infekte mit anderen Mikroorganismen (Bakterien, Trichomonaden, Viren),
- b) Scheidenspülungen mit Verschiebung des pH-Wertes zur alkalischen Seite,
- c) Fremdkörper (z.B. Menstruationstampons, Pessare) begünstigen durch lokalen Reiz und Sekretstau die Alkalisierung,
- d) ständiger Geschlechtsverkehr mit infiziertem Partner (75, 76),
- e) traumatische Irritation,
- f) mangelhafte Körperpflege.

B. Endogene Faktoren:
- a) endokrine Störungen (33), z.B. Ovarialinsuffizienz, Hyper- und Hypothyreose, Cushing-Syndrom,
- b) resistenzmindernde Erkrankungen, Allergien, Ernährungsstörungen (90),
- c) Metronidazolbehandlung des Trichomonadenfluors (1, 4, 16, 69),

d) Antibiotika- und Kortison-Therapie (45, 53, 56, 64, 65, 66, 81, 82, 85),

e) Diabetes mellitus (52),

f) Ovulationshemmer (12, 96), Hormontherapie,

g) Gravidität (49, 67, 89).

Zahlreiche Symptome veranlassen Patientinnen bei Candidabefall der Vagina den Arzt aufzusuchen. Als häufigstes Merkmal tritt ein ständiger, quälender Juckreiz, weiter ein Brennen, das besonders heftig nach Miktion auftreten kann (87), Dyspareunie und bei stärkerer Vulvitis auch Dysurie auf (36, 79). Die Vulva und der Introitus vaginae scheinen hierbei trockener als gewöhnlich zu sein. Die Beschwerden nehmen im allgemeinen in der praemenstruellen Periode im Gegensatz zur Vaginitis, die durch Trichomonaden verursacht wird, und die besonders während sowie direkt nach der Menstruation manifest wird, zu. Meist ist das Plattenepithel der Labia minora intensiv gerötet, ebenso der Introitus und die Vagina, besonders das untere Drittel. Die Haut der Inguinalregion, evtl. auch des Afters, sind bei etwa 65 % der Soorvaginitiden miterkrankt. An der Portiooberfläche sind die Erscheinungen weniger ausgeprägt als an der Vaginalwand. Im akuten Stadium ist die Vulva stark ödematös angeschwollen und entzündlich verändert. Im Vaginallumen sammelt sich häufig ein pastenartiges, grauweißliches Sekret an, das manchmal wie ein Tampon vor der Portio liegt. Fast ausnahmslos werden Vulva und Vagina gleichzeitig befallen (41). Digitale Untersuchungen, auch Einstellungen mit dem Spekulum, sind äußerst schmerzhaft, was dem sehr empfindlichen Introitus vaginae zuzuschreiben ist. Der normale pH-

Wert der Scheidenflüssigkeit liegt zwischen 3,3 und 4,5. Er verschiebt sich bei vaginaler Candidosis nach 5,5 bis 6,8 (3, 63).

Die differentialdiagnostische Einteilung der Vaginalmykosen nach Spitzbart (38) dürfte den Erfordernissen der gynäkologischen Praxis am nächsten kommen:

I. Kolpitis mykotica

1) leichte Form: gelblich-weiße Beläge lassen sich ohne Epithellaesion abstreifen.

2) schwerere Form: gelblich-weiße Beläge hinterlassen bei der Entfernung oberflächliche Ulzerationen oder punktförmige Blutungen.

II. Latente Hefemykose mit Beschwerden

Die Symptome sind charakterisiert durch Juckreiz, Fluor, Dysurie, an der Scheidenwand häufig Rötung und Oedem im Sinne einer Kolpitis simplex.

III. Latente Hefemykose ohne Beschwerden

Symptome fehlen in 20 bis 30 % aller manifesten Vaginitiden (29, 55). Die Toleranzgrenze ist noch nicht überschritten, d.h. die oberflächlich siedelnden Hefezellen verursachen im Wirtsorganismus keine Entzündung. In der Kultur lassen sich meist Hefen und Laktobakterien nachweisen.

Differentialdiagnostisch kann die Einstufung des Fluors schwangerer Frauen manchmal schwierig sein, wenn lediglich durch die Kultur Hefewachstum nachgewiesen wird. Besonders Erstschwangere klagen häufig über Ausfluß, der jedoch meist durch physiologische Veränderungen während der Gravidität wie vermehrter Diffusionsfluor durch das in

dieser Zeit häufige Ektropium, gesteigerte Desquamation der Mucosa vaginalis und allgemeine Succulenz mit erhöhtem Gewebstugor, erklärt werden kann (90). Eine verstärkte Sekretion besteht weiter vor der Menstruation und dauernd bei Multipara, bedingt durch das Klaffen der Cervix.

Die klinische Diagnostik der vaginalen Candidosis ist wegen der häufig atypischen Symptome schwierig und wird in vielen Fällen nicht exakt gestellt, was zur Folge hat, daß eine ungezielte Fluorbehandlung bis 80 % Mißerfolg ergibt (26).

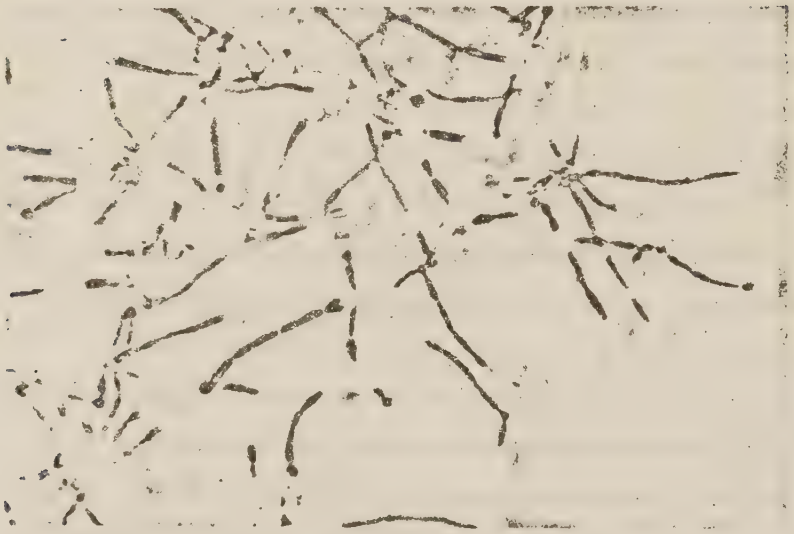
2.2. Mikrobiologische Diagnostik der Candidosis:
Bei massenhaftem Vorliegen von Hefezellen im Ausstrichmaterial kann die Entscheidung, ob es sich um eine Mykose handelt, vom geübten Untersucher schon mit dem Phasenkontrastmikroskop gefällt werden. Eine Differenzierung zwischen Bakterien und Hefen ist auf diese Weise möglich, in manchen Fällen kann auch die Gattungsdiagnose gestellt werden. Trichomonaden können ebenfalls mit Hilfe des Nativpräparates im Dunkelfeld oder mit Phasenkontrastoptik und nach Giemsafärbung ausgeschlossen werden.

Über den Wert der alleinigen mikroskopischen Untersuchung zur Diagnostik der Candidosis herrscht noch immer keine einheitliche Auffassung; Romero (77) und Bourg (6) meinen, daß ein mikroskopisches Präparat vollkommen ausreichend sei, nach De Silva (84), Soldan (84) und Spitzbart (88) soll der Nachweis nur gelingen, wenn im gefärbten Ausstrich eine große Zahl von Hefezellen vorliegt.

Letztere empfehlen daher die gleichzeitige Kultivierung. Dies war dem Gynäkologen bisher nur schwer möglich, wenn er nicht über ein eigenes mikrobiologisches Labor verfügte. Der übliche Weg ging über die Einsendung des Abstrichmaterials an ein Untersuchungsamt oder entsprechendes Laboratorium. Bis zur Rückantwort verstrichen mindestens 8 - 10 Tage, die für eine gezielte Therapie verlorengingen.

Beim konventionellen Kulturnachweis von Hefen wird der Tupfer auf Biomalzagar oder ein anderes entsprechendes Spezialmedium ausgestrichen. Nach 2- bis 5-tägiger Bebrütung bei 22 und 37°C werden die gewachsenen Hefekolonien auf Reisagar überimpft. Auf einen Quadranten der Platte wird ein steriles Deckglas gelegt. Nach 24- bis 48-stündiger Bebrütung (27°C) erkennt man, wenn Hefen vorliegen, im Mikroskop in der Regel runde bis kurzovale Zellen, bei Vorliegen von Arten der Gattung Candida verlängerte Zellen (Pseudomycel). Die Sproßzellen liegen in kompakten Haufen oder sind in lockeren, verzweigten Wirteln an den Enden oder Seiten der Hyphenzellen angeordnet. Wenn die Hefen der Art Candida albicans angehören, sitzen große, dickwandige Chlamydosporen auf der letzten Zelle des Pseudomycels.

Abb. 1: Candida albicans auf Reisagar. Endständige Chlamydosporen an den Pseudomycelzellen.



Erst die Entwicklung von Differentialmedien machte es auch dem mykologisch ungeübten Untersucher möglich, eine exakte Diagnose zu stellen. Bump und Kunz (9) beschrieben ein Medium mit Molybdatzusatz, das anhand der selektiven Anfärbung von Hefekolonien beim Wachstum erlaubt, Arten der Gattung Candida zu differenzieren. Vergleichbare Effekte wie mit Molybdatzusatz erzielt man auch mit Verbindungen der verwandten Elemente Selen und Tellur. Selenit liefert rot gefärbte Reduktionsprodukte innerhalb der Zellen (59, 86), während sich in Sproßpilzen auf tellurithaltigem Nährsubstrat je nach ihrer

Fähigkeit zur Telluritreduktion und -speicherung eine graue bis schwarze Pigmentation (32, 48, 91) entwickelt.

Im allgemeinen ist es für den behandelnden Arzt ausreichend zu wissen, ob bei der mykologischen Untersuchung "Candida" oder aber andere Hefen bzw. keine Hefen gefunden werden. Da der Nachweis primär medizinischen und nicht mikrobiologischen Zwecken dienen soll, kann auf eine weitere Artbestimmung, die für eine spezifisch antimykotische Therapie unwesentlich ist, in vielen Fällen verzichtet werden.

Von Nickerson (58) wurde 1953 ein Medium angegeben, welches gestattet, Candida-Kolonien mittels einer charakteristischen braun-schwarzen Verfärbung und eines metallischen Glanzes zu erkennen. Es enthält neben Dextrose, Biotin, Ammonium- und Kaliumsulfat, Calciumchlorid und Agar-Agar einen Wismut-Hydroxy-Polysulfit-Komplex[1)]. Wismutsulfit wird durch Sulfitreduktase, ein spezifisches Enzym, das in der Membran der Sproßpilze vermutet wird (60), zu unlöslichem Wismutsulfid reduziert.

1) Über die geschützte Rezeptur konnten keine genaueren Angaben erhalten werden.

Es wurde geprüft, ob Nickerson's Medium(R)

a) im Vergleich zu einem der bisher üblicherweise gebräuchlichen Kulturmedien die gleiche Ausbeute an Kolonien der Gattung Candida ergibt;

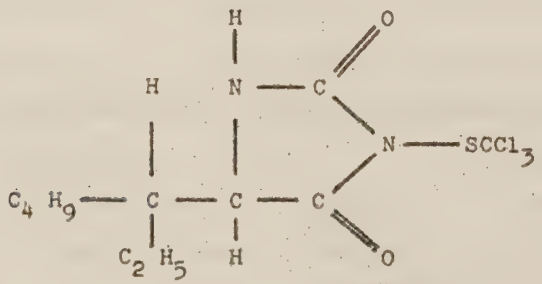
b) zu einer Braunfärbung der Kolonien von allen Arten der Gattung Candida führt;

c) die Ablesung eines eindeutigen Ergebnisses gestattet und ob

d) bei einer Überimpfung anderer Mikroorganismen falsch positive Ergebnisse erhalten werden können.

2.3. Testung der Antimykotika:

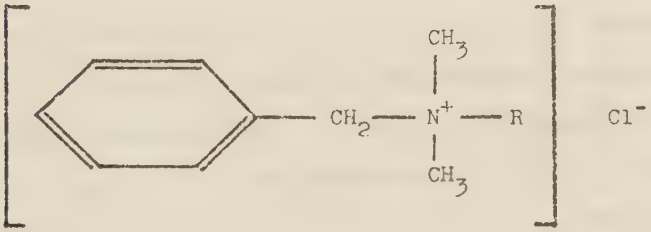
2.3.1. Clodantoin (5-(1-Aethyl-pentyl)-3-(trichlormethyl-thio)-imidazolidin-2,4-dion) ist ein weißes, kristallines Pulver mit einem Molekulargewicht von 331,71 und einem Schmelzpunkt zwischen 121 und 128°C. Bei Zimmertemperatur ist es schwach löslich in Wasser, mäßig in Aether, gut in Aethanol und sehr gut in Chloroform.



Clodantoin

5-(1-Aethyl-pentyl)-3-(trichlormethyl-thio)-imidazolidin-2,4-dion

2.3.2. Benzalkoniumchlorid (Alkyl-dimethyl-benzyl-ammoniumchlorid) findet als 50%ige wässrige Lösung Verwendung. Von der wasserfreien Substanz löst sich 1 g in 6 ml Benzol oder 100 ml Aether. Die Substanz ist auch in Aethanol löslich und dann in jedem Verhältnis mit Wasser, niedrigen Alkoholen und Ketonen mischbar. Das durchschnittliche Molekulargewicht beträgt ca. 360.



(R = $C_8 H_{17}$ bis $C_{16} H_{33}$)

Benzalkoniumchlorid

1935 fand Domagk (18), daß die bakterizide Wirkung der quaternären Ammoniumverbindungen in Abhängigkeit von den benutzten Testorganismen bei einer optimalen Kettenlänge von C_{12} bis C_{16} liegt. Von entscheidender Bedeutung für die Aktivität von Benzalkoniumchlorid ist der Alkylrest, der aus einem Gemisch von Fettsäuren mit 8 bis 16 Kohlenstoffatomen besteht, wobei besonders der Laurylrest $-(CH_2)_{10}-CH_3$ eine intrazelluläre Blockade der Atmungsenzyme bewirken soll (73). Wegen der im Gegensatz zu den gewöhnlichen Seifen positiven Ladung des Alkylrestes bezeichnet man diese Verbindungen als Invertseifen (38).

2.3.3. Sporostacin$^{(R)}$ ist eine Vaginalcreme, die Clodantoin (1%) und Benzalkoniumchlorid (0,05%) enthält. Die Therapie besteht in der Einführung von 5 ccm Creme mit Hilfe eines Applikators in die Vagina morgens und vor der Nachtruhe über 14 Tage. Etwa eine Woche nach Beendigung der Behandlung soll das Ergebnis über Pilzkulturen nachgeprüft werden. Wenn die Kultur positiv geblieben ist, muß eine zweite Kur mit der Creme angeschlossen werden. Die minimale Hemmkonzentration (MHK) der folgenden Substanzen wurde bestimmt:

1. Clodantoin
2. Clodantoin in Abhängigkeit vom pH-Wert
3. Benzalkoniumchlorid
4. Clodantoin und Benzalkoniumchlorid und
5. Sporostacin$^{(R)}$

3. EXPERIMENTELLER TEIL

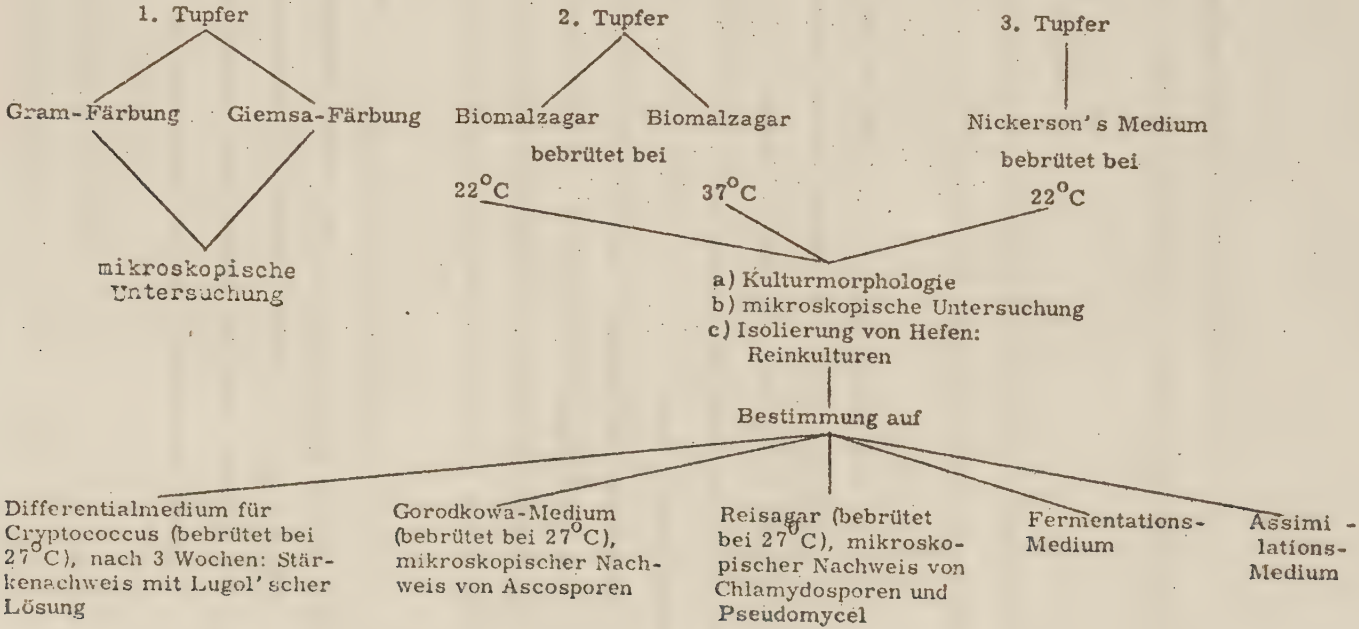
3.1. Klinik: 193 Patientinnen der gynäkologischen Ambulanz der Universitäts-Frauenklinik Homburg/Saar, die meist von ihren Hausärzten überwiesen worden waren, wurden, wenn eine Vaginits vorlag, auf Candida-Infektion untersucht. Aus organisatorischen Gründen gehörten zu dieser Zahl nur wenige schwangere Frauen.

Nach Spekulumeinstellung wurden von der Mucosa der Vagina oder Vulva mit drei sterilen Stieltupfern käseartige Partikel abgestreift. Waren diese nicht vorhanden, was besonders häufig zu Beginn der Infektion vorkam, wurde Sekret sowohl aus dem hinteren Scheidengewölbe und der seitlichen Scheidenwand als auch von der Hautschleimhautgrenze des Introitus entnommen. Dabei wurde nach Möglichkeit darauf geachtet, daß die Patientin, von deren Vaginalsekret eine Kultur angelegt werden sollte, 72 Stunden vor dem Abstrich weder eine Scheidenspülung vornahm, noch irgend ein intravaginales Medikament anwendete.

3.2. Diagnostik: Die mikrobiologische Untersuchung der drei Vaginalabstriche wurde nach dem Schema (Seite 21) etwa 1 bis 3 Stunden nach Entnahme begonnen.

3.2.1.: Der 1. Tupfer wurde auf 2 Objektträgern ausgestrichen, nach Gram und Giemsa gefärbt und anschließend mikroskopiert.

SCHEMA: Untersuchung von Vaginalabstrichen zur Austestung der Brauchbarkeit von Nickerson's Medium.



3.2.2.: Der 2. Tupfer wurde gleichmäßig auf 2 Petrischalen mit Biomalzagar[1] zur Bebrütung bei 22 und 37°C ausgestrichen. Wenn nach 2 bis 5 Tagen makroskopisch verdächtige Kolonien vorlagen, wurden die Zellen im Phasenkontrastmikroskop untersucht. Bei positivem Befund erfolgte die Überimpfung einzelner Kolonien zur weiteren morphologischen Differenzierung (Pseudomycel- und Chlamydosporenbildung) auf Reisagar. Die Kolonien wurden außerdem auf Gorodkowa-Medium ausgestrichen und nach 2 bis 5-tägiger Bebrütung bei 27°C im Phasenkontrast mikroskopiert; auf diese Weise konnte die Gattung Saccharomyces (mit Ascosporen) ausgeschlossen werden (87).
Schließlich wurde noch ein Cryptococcus-Nährmedium beimpft und nach 3 Wochen Bebrütung bei 27°C mit Lugolscher Lösung zum Nachweis von Stärke angefärbt. Im negativen Fall konnte so die Gattung Cryptococcus ausgeschlossen werden.
Von den isolierten Hefen wurden Reinkulturen angelegt und zur Artbestimmung auf Fermentations- und Assimilationsvermögen getestet.

3.2.3: Das Nickerson-Medium(R) wurde mit dem 3. Tupfer in drehenden Bewegungen beimpft, bei einer Temperatur von 22°C 3 - 10 Tage aufbewahrt und abgelesen. Falls sich die typischen braunschwarzen Kolonien gebildet hatten, wurden sie wieder auf Reis- und Gorodkowa-Medium ausgestrichen, isoliert und biochemisch bestimmt, um ihre Identität mit den unter 3.2.2. gefundenen Hefen nachzuweisen.

1) Zusammensetzung des Mediums siehe Anhang.

3.2.4.: Zur weiteren Kontrolle von Nickerson's Medium wurde jeweils ein Sammlungsstamm von Trichosporon cutaneum und Trichosporon capitatum, Saccharomyces cerevisiae, Torulopsis sphaerica, T. famata, T. glabrata und T. dattila, Rhodotorula mucilaginosa und Rh. rubra, Geotrichum candidum sowie die Candida-Arten albicans, tropicalis, pseudo-tropicalis, curvata, parapsilosis, intermedia, krusei und guilliermondii auf Nickerson's-Medium überimpft. Stämme von Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Proteus, Enterobacter, Staphylococcus aureus und Streptococcus faecalis wurden ebenfalls getestet. Die Bebrütungstemperatur betrug in jedem Falle 22°C über 10 Tage bei täglicher Ablesung.

3.3.: Testung der Antimykotika.

68 Teststämme wurden für die Versuche ausgewählt:

33 Stämme von Candida albicans
6 Stämme von Candida tropicalis
4 Stämme von Candida pseudotropicalis
1 Stamm von Candida curvata
2 Stämme von Candida parapsilosis
5 Stämme von Candida krusei
4 Stämme von Candida guilliermondii
4 Stämme von Candida stellatoidea
1 Stamm von Trichosporon capitatum
2 Stämme von Trichosporon cutaneum
1 Stamm von Geotrichum candidum
1 Stamm von Rhodotorula mucilaginosa
1 Stamm von Cryptococcus neoformans
1 Stamm von Aspergillus fumigatus
1 Stamm von Mucor ramannianus

Der größte Teil der Candida albicans-Stämme wurde den Reinkulturen aus den Isolierungen von pathologischen Schleimhautveränderungen der Vagina (siehe 3.1.) entnommen. Die Versuche wurden mit einer Ausnahme (vgl. Seite 39) in einer von Lodder und Kreger van Rij (46) angegebenen vollsynthetischen Nährlösung[1)] angesetzt. Alle Pilzstämme waren zuvor in jeweils 10 ml Nährlösung 2 Tage lang bei 37°C im Brutschrank vorkultiviert worden.

1) Herstellung des Mediums siehe Rezeptsammlung im Anhang.

Clodantoin wurde in 96%igem Aethanol gelöst und mit destilliertem Wasser verdünnt. Die Aethanol-Konzentration betrug im Versuchsansatz o,o5 %. Die Teststämme wurden hierdurch nicht gehemmt. Das gut wasserlösliche Benzalkoniumchlorid konnte direkt auf die entsprechenden Verdünnungen gebracht werden.

Sporostacin$^{(R)}$-Creme wurde in o,5 ml Aethanol und 20 ml Nährlösung mit Ultraschall emulgiert, bis eine einheitliche milchige Trübung entstand. Nach Zugabe der restlichen Nährlösung wurde nochmals beschallt.

In jedes Reagenzglas wurden 9,8 bzw. 9,7 ml Nährlösung gefüllt und je 0,1 ml Test- und Impflösung (mit 10^5 Hefezellen) steril hinzugegeben. Die Röhrchen wurden in Schräglage im Schüttelapparat befestigt, bei 37°C über 2 Tage bebrütet und jeweils nach 24 und 48 Stunden auf Trübung abgelesen. Nach 72 und 96 Stunden traten keine Veränderungen der minimalen Hemmkonzentration mehr auf.

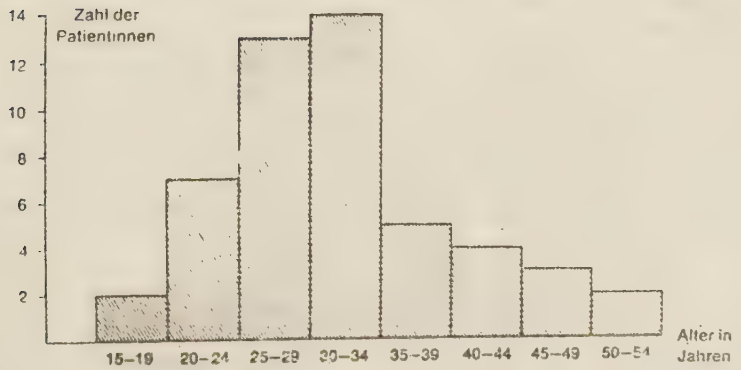
4. ERGEBNISSE

4.1. Klinik: Von 193 Patientinnen mit einer manifesten Vaginitis bestätigten Kulturuntersuchungen eine Candidosis in 50 Fällen.

4.1.1.: Häufigkeit des Auftretens von Candida-Kolpitiden in Anhängigkeit vom Alter:

Wie aus Abb. 2 hervorgeht, standen von den betroffenen Frauen 54 % zwischen dem 25. und 34. Lebensjahr, 18 % waren jünger und 23 % älter. Candida-Infektionen bei Kindern (bis zum 15. Lebensjahr) und ebenso bei älteren Patientinnen (ab 55. Lebensjahr) wurden nicht gefunden.

Abb. 2: Altersverteilung von Patientinnen mit einer vaginalen Candidosis.



Als Primär- bzw. Begleiterkrankungen wurden angegeben:

4 x Diabetes mellitus

2 x Diabetes mellitus und Adnexitis

3 x Tuberkulose

2 x Pleuropneumonie

2 x Lichen ruber

1 x Muttermundsgeschwür

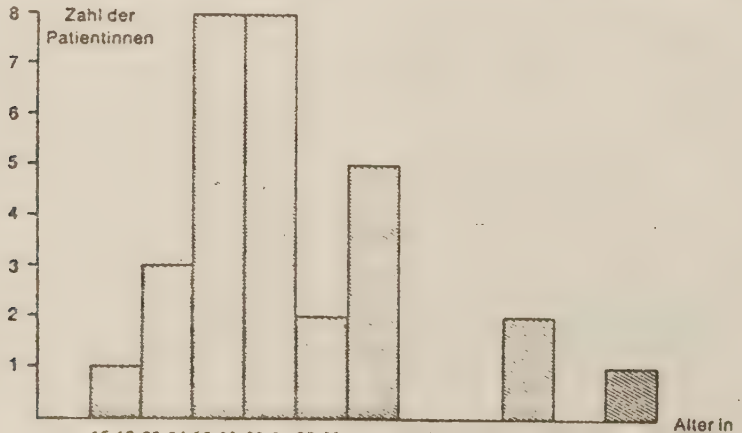
1 x Emmetrisse

1 x Descensus uteri (Behandlung mit Ringpessar)

4.1.2. Vergleich der Häufigkeit der Trichomonaden- und Candida-kolpitiden in Abhängigkeit vom Alter.

Abb. 3 zeigt, daß von 125 Frauen mit einer Vaginitis, die nicht durch eine Candida-Infektion verursacht war 30 (24%) an einer Trichomonaden-kolpitis litten. 53 % von ihnen waren im Alter zwischen 25 und 34 Jahren. 10 Patientinnen hatten gleichzeitig eine Candida-Mykose und Trichomonaden-Kolpitis. Davon waren 5 Frauen im Alter von 25 bis 29 Jahren, 2 jünger und 3 älter.

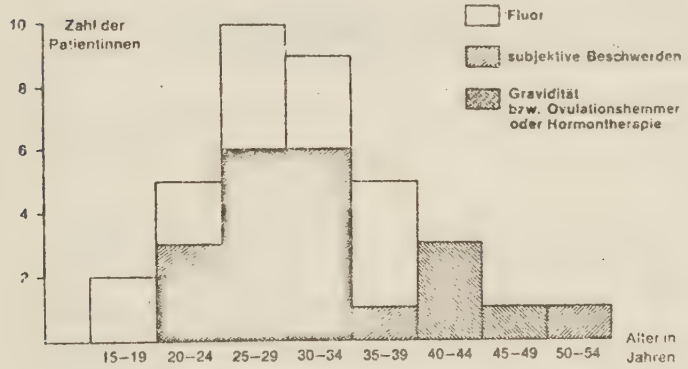
Abb. 3: Altersstatistik von Frauen mit einer Trichomonaden-Kolpitis.



4.1.3. Alter und Beschwerden von Patientinnen mit vaginaler Candidosis.

82 % der Patientinnen mit einer vaginalen Candidosis klagten über Fluor, 36 % über subjektive Beschwerden wie Cohabitationsschmerz, Brennen beim Wasserlassen und ständigen, quälenden Juckreiz. 39 % der Frauen waren entweder schwanger oder nahmen regelmäßig Ovulationshemmer (Abb. 4). In 16 % der Fälle verlief die Infektion symptomlos.

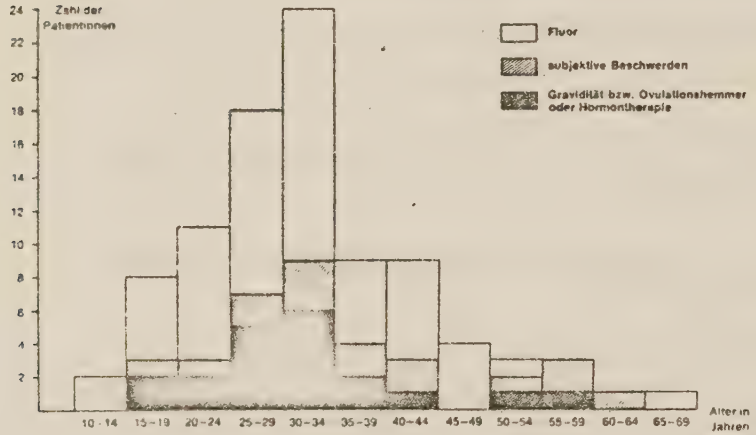
Abb. 4: Altersverteilung von Patientinnen mit vaginaler Candidosis:



4.1.4. Altersverteilung von Patientinnen mit unklarer Vaginitis.

74 % derjenigen Frauen, die an einer Vaginitis unklarer Genese litten, hatten Fluor und 27 % subjektive Beschwerden. 16 % von ihnen waren entweder gravide oder nahmen orale Kontrazeptiva (s. Abb. 5).

Abb. 5: Altersverteilung von Patientinnen mit unklarer Vaginitis:



4.2.: Diagnostik: Die Auswertung mikroskopischer Präparate und der Kulturuntersuchungen von 193 Patientinnen mit Vaginitis erbrachte nachfolgende Ergebnisse.

4.2.1. Ergebnis der mikroskopischen Untersuchung:

Von den 193 untersuchten Frauen fanden sich bei der mikroskopischen Untersuchung 20-mal und bei der Kulturuntersuchung 50-mal Hefen. Bei der Durchmusterung der mikroskopischen Präparate wurden Sproßzellen, manchmal Pseudomycel, ferner polymorphkernige Leukocyten, dyskaryotische Epithelzellen, vereinzelt Lymphozyten und Plasmazellen gefunden. Die Auswertung der Grampräparate führte schneller zu einem positiven Ergebnis als die der Giemsapräparate, da sich die gram-positiven Hefezellen besser von der Umgebung abheben.

4.2.2. Ergebnis der Kulturuntersuchung:

Im gleichen Untersuchungsmaterial wurden 51-mal Hefen nachgewiesen. Davon gehörten 50 der Gattung Candida und eine der Gattung Rhodotorula an, die in diesem Fall mit Candida albicans eine Mischflora bildete (Tab. 1).

Andere Hefegattungen traten nicht auf.

Tab. 1: Prozentualer Anteil von Hefegattungen und -arten im Untersuchungsmaterial.

Aus der Vagina isolierte Hefen	Anzahl	%
Candida albicans	31	60
Candida tropicalis	5	10
Candida stellatoidea	4	8
Candida krusei	4	8
Candida guilliermondii	3	>14
Candida pseudotropicalis	2	
Candida parapsilosis	1	
Rhodotorula rubra	1	
Insgesamt	51	100

Die Braunfärbung der Candida-Kolonien auf Nickerson's Medium (R) wurde normalerweise nach 1 bis 3, spätestens nach 5 Tagen sichtbar. Bei 2 Fällen wurden in Nickerson's Medium nach 10 Tagen nur schwach rosa-weiße Kolonien erhalten. Die Bestimmung ergab in einem Fall Rhodotorula rubra, also die Angehörige einer anderen Hefegattung. Im anderen Fall stellte sich die Braunfärbung der Hefekolonien erst nach 10 Tagen ein. Hier lag C. parapsilosis vor, eine im pathologischen Material selten vorkommende Art, die die generelle Verwendung von Nickerson's Medium (R) nicht beeinträchtigt.

In jedem Falle des Wachstums brauner Candida-Kolonien wurde Candida auch auf Biomalzagar gefunden.

Von den auf Nickerson's Medium(R) überimpften Sammlungsstämmen zeigten lediglich alle Candida-Arten hell- bzw. dunkelbraune Kolonien. Die Vertreter aller anderen Pilzgattungen - zu denen auch humanpathogene gehörten (Trichosporon cutaneum und capitatum, Saccharomyces cerevisiae, Torulopsis sphaerica, T. famata, T. glabrata und dattila, Rhodotorula mucilaginosa, Geotrichum candidum, Aspergilius fumigatus und Mucor ramannianus) - wuchsen farblos.

Die überimpften Reinkulturen von Escherichia coli, Proteus, Enterobacter, Pseudomonas aeruginosa, St. aureus und Strept. faecalis zeigten auf Nickerson's Medium(R) nur schwaches Wachstum ohne Verfärbung der Kolonien oder des Agars.

4.3.: Ergebnisse der Untersuchung mit Antimykotika:

4.3.1.: Röhrchenverdünnungstest mit Clodantoin.

Geprüft wurden die Clodantoinkonzentrationen von 0,1; 0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 12; 16; 20; µg/ml (Tab. 2) in einem vollsynthetischen Medium[1)], das mit 0,1 ml einer 48-Stunden alten Kultur der entsprechenden Hefeart beimpft wurde.

1) siehe Anhang

Tab. 2 MHK von Clodantoin

Anzahl	Stämme	MHK in µg/ml nach 24 Stunden	MHK in µg/ml nach 48 Stunden
33	Candida albicans	0,5 bis 2	0,5 bis 6
6	Candida tropicalis	1 bis 2	4 bis 16
4	Candida pseudotropicalis	0,5 bis 1	2 bis 4
1	Candida curvata	1	4
2	Candida parapsilosis	1	1 bis 4
5	Candida krusei	0,5 bis 2	1 bis 12
4	Candida guilliermondii	1	1 bis 2
4	Candida stellatoidea	1	1 bis 2
1	Trichosporon capitatum	1	2
2	Trichosporon cutaneum	1	1 bis 2
1	Rhodotorula mucilaginosa	0,5	1
1	Rhodotorula rubra	0,5	1
1	Cryptococcus neoformans	2	4
1	Geotrichum candidum	0,5	1
1	Aspergillus fumigatus	6	keine Hemmung
1	Mucor ramannianus	4	12

Clodantoin hemmte das Wachstum der Mehrzahl der Hefestämme in der Konzentration von 0,5 - 4 µg/ml.

4.3.2. MHK von Clodantoin in Anhängigkeit vom pH-Wert.

Da vermutet wurde, daß der pH-Wert der Nährlösung einen Effekt auf die MHK hat, wurde das Substrat (Original-pH von 5,2) mit HCl oder NaOH (also ohne Pufferung) auf die Werte von 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5; 7 eingestellt (Tab. 3).

Tab. 3: Abhängigkeit der MHK vom Anfangs-pH der ungepufferten Nährlösung.

Stämme (je 2)	MHK in µg/ml nach											
	pH 4,5		pH 5,0		pH 5,5		pH 6,0		pH 6,5		pH 7,0	
	24^h	48^h	24^h	48^h	24^h	48^h	24^h	48^h	24^h	48^h	24^h	48^h
Candida albicans	2	6	0,5	2	1	2	0,5	4	0,5	1	1	2
" tropicalis	1	4	1	4	6	8	2	4	4	4	4	8
" pseudotropicalis	1	4	1	1	2	2	1	4	1	1	0,5	0,5

Das Ergebnis ließ keine eindeutige Tendenz erkennen. Da der pH-Wert der Nährlösung nach 48-stündiger Bebrütung zum Sauren absank (z.B. von pH 5,0 nach 2,8) wurden die Versuche in einem gepufferten Medium wiederholt.

Zur Pufferung und Einstellung der verschiedenen pH-Werte wurden 0,1 M Zitronensäure und 0,2 M $Na_2HPO_4 . 12H_2O$ in entsprechenden

Verhältnissen zur Nährlösung hinzugegeben (14) und zur Kontrolle elektrometrisch nachgeprüft. Die Pufferkapazität war auch nach 48-stündiger Bebrütung noch ausreichend (Tab. 4).

Tab. 4: Abhängigkeit der MHK vom pH-Wert in gepufferter Nährlösung.

Stämme (je 2)	MHK in µg/ml nach											
	pH 4,5		pH 5,0		pH 5,5		pH 6,0		pH 6,5		pH 7,0	
	24^h	48^h	24^h	48^h	24^h	48^h	24^h	48^h	24^h	48^h	24^h	48^h
Candida albicans	0,5	1	0,5	1	0,5	2	0,5	2	1	4	1	4
" tropicalis	1	4	1	4	2	4	2	8	1	8	2	8
" pseudotropicalis	0,5	1	0,5	1	0,5	1	4	16	4	16	4	16

Mit fallendem pH-Wert erhöhte sich die Wirksamkeit von Clodantoin.

4.3.3.: Röhrchenverdünnungstest mit Benzalkoniumchlorid. Benzalkoniumchlorid soll nur eine geringe Hemmwirkung auf Hefen haben. Die Substanz wurde in den Konzentrationen 50; 100; 150; 200; 300; 350; 400; 450; 500 µg/ml untersucht. (Tab. 5)

Tab. 5: MHK von Benzalkoniumchlorid.

Anzahl	Stämme	MHK in µg/ml nach	
		24 Stunden	48 Stunden
2	Candida albicans	200	200
2	Candida tropicalis	200	300
2	Candida pseudotropicalis	100	100
1	Trichosporon capitatum	100	100
1	" cutaneum	150	300
1	Geotrichum candidum	100	200
1	Rhodotorula rubra	vollständige Hemmung	100
1	Cryptococcus neoformans	150	250
1	Aspergillus fumigatus	keine Hemmung	keine Hemmung
1	Mucor ramannianus	300	500

Erwartungsgemäß hatte Benzalkoniumchlorid nur in höheren Konzentrationen hemmende Wirkung.

4.3.4.: Röhrchenverdünnungstest mit Clodantoin und Benzalkoniumchlorid.

Zum Nachweis der synergistischen Wirkung von Clodantoin und Benzalkoniumchlorid wurden beide Substanzen in Konzentrationen gemischt, die für sich allein keine oder nur schwache Wirksamkeit gezeigt hatten.

Die MHK bei gleichzeitiger Einwirkung von 0,5 µg/ml Clodantoin und Benzalkoniumchlorid (10, 20, 30, 40, 50 µg/ml) sind Tab. 6 zu entnehmen.

Tab. 6: MHK von Clodantoin (0,5 µg/ml) und Benzalkoniumchlorid (in den angegebenen Konzentrationen).

Anzahl	Stämme	MHK in µg/ml nach	
		24 Stunden	48 Stunden
2	Candida albicans	20 bis 30	30 bis 40
2	Candida tropicalis	20	20
2	Candida pseudotropicalis	20	20 bis 30
2	Candida curvata	20	20
1	Candida parapsilosis	20	30
1	Candida krusei	20	20
1	Candida guilliermondii	vollständige Hemmung	20
1	Trichosporon capitatum	vollständige Hemmung	20
1	Trichosporon cutaneum	20	30
1	Rhodotorula mucilaginosa	20	20
1	Rhodotorula rubra	20	20
1	Cryptococcus neoformans	30	50
1	Geotrichum candidum	20	20
1	Aspergillus fumigatus	50	keine Hemmung
1	Mucor ramannianus	30	40

Bei einer Dosierung von maximal 40 µg/ml Benzalkoniumchlorid kann die Clodantoin-Konzentration 0,5 µg/ml betragen, um eine vollständige Hemmung zu bewirken. Ausnahmen bildeten lediglich Aspergillus fumigatus, der nach 2 Tagen in allen Röhrchen gewachsen war und Cryptococcus neoformans (50 µg/ml Benzalkoniumchlorid bis zur vollständigen Hemmung). Eine Kombination beider Substanzen erhöht somit die antimycetische Wirksamkeit erheblich.

4.3.5.: MHK von Sporostacin(R)

In der Vaginalcreme Sporostacin(R) sind Clodantoin und Benzalkoniumchlorid im Verhältnis 1:0,05 gemischt. 1 g Creme enthält 10 mg Clodantoin und 0,5 mg Benzalkoniumchlorid. Die Verdünnung der Creme wurde so angesetzt, daß folgende Konzentrationen (µg/ml) zur Wirkung gelangten.

Clodantoin :	0,3	0,6	1,2	2,5	5	8	10	25	50
Benzalkonium-chlorid :	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,4	0,5	1,25	2,5

Nachdem in Vorversuchen festgestellt worden war, daß nach Emulgierung von 1 g Creme in 0,5 ml Äthanol plus 19,5 ml Nährlösung und Weiterverdünnung Flockenbildung auftrat, befürchteten wir unkontrollierbare Verdünnungen der Wirksubstanzen. Wir versuchten daher durch Zusatz eines Emulgators (Tween 80-Polyoxyaethylensorbitanmonooleat-1 %-ige Lösung, davon 0,5 ml zu 100 ml Cremeemulsion) zu einer

stabilen Emulsion zu kommen. Die geringe Menge zugesetzten Emulgators führte jedoch zu einer Verringerung der Hemmwirkung.

Von der Annahme ausgehend, daß die Ausflockung durch die hohe Kationenkonzentration in der synthetischen Nährlösung verursacht wurde, wiederholten wir die Teste in einer salzarmen Nährlösung aus 10 g Hefeextrakt (Oxoid), 5 g Glukose, 10 ml Vitaminkonzentrat, 1000 ml Aqua dest.

Da in diesem Medium das Hefewachstum zufriedenstellend war und stabile Emulsionen erhalten wurden, konnten die Teste durchgeführt werden. Infolge der starken Verdünnung der Creme waren die Röhrchen im Versuchsansatz klar genug, um die Ablesung auf Trübung nicht zu beeinträchtigen. Die Ergebnisse sind in Tab. 7 zusammengefaßt.

Tab. 7: MHK von Sporostacin Creme

Anzahl Stämme		MHK in µg/ml nach			
		24 Stunden		48 Stunden	
		Clodant.	+ Benzalk.	Clodant.	+Benzalk.
2	Candida albicans	10	0,5	25	1,2
2	Candida tropicalis	10	0,5	25	1,2
2	Candida pseudotropicalis	10	0,5	10	0,5
1	Trichosporon capitatum	5	0,25	10	0,5
1	Trichosporon cutaneum	5	0,25	25	1,2
1	Geotrichum candidum	1,25	0,06	5	0,25
1	Rhodotorula rubra	0,6	0,03	0,6	0,03
1	Cryptococcus neoformans	5	0,25	10	0,5
1	Aspergillus fumigatus	10	0,5	25	1,2
1	Mucor ramannianus	5	0,25	5	0,25

Die unter den angegebenen experimentellen Bedingungen erzielten Ergebnisse zeigen, daß alle getesteten Pilze vollständig durch die in der Vaginalcreme enthaltenen Wirkstoffkonzentrationen gehemmt werden.

5. DISKUSSION

5.1. Klinik: Bei einem hohen Prozentsatz von Patientinnen, die die gynäkologische Sprechstunde mit entzündlichen Veränderungen von Vulva und Vagina aufsuchten, ließ sich Hefebefall nachweisen. Im vorliegenden Untersuchungsmaterial waren es 26 % der Patientinnen, in anderen Literaturangaben (41) werden sogar 38 % genannt. Dagegen konnten Trichomonaden nur in 16 % als Ursache von Kolpitiden ermittelt werden; Recoules (70) fand einen Anteil von 29 %.

Die von uns untersuchten Frauen waren zwischen 12 und 67 Jahre alt. Trotz der relativ geringen Patientenzahl - bei 50 Frauen konnte eine Candidosis festgestellt werden - läßt sich aus der Altersverteilung in Übereinstimmung mit den Befunden anderer Autoren (11, 31, 70, 97) entnehmen, daß besonders Frauen in der Periode sexueller Aktivität mit Candida infiziert sind. Ein deutlicher Gipfel wird also zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr beobachtet. Ausschlaggebend hierfür könnte auch die Einnahme von Ovulationshemmern sein. Ebenso werden die zyklischen Veränderungen an der Mucosa vaginalis hierfür verantwortlich gemacht.
Die Entwicklung der Candidosis soll einmal durch den östrogenbedingten Aufbau und die Einlagerung von Glykogen in der Oberflächenschicht und zum anderen durch die in der zweiten Zyklushälfte stattfindende verstärkte Abschilferung der Oberflächenepithelzellen

und Zytolyse durch Östrogen- und Progesteronaktivität (wobei Glykogen durch Fermente in Glukose gespalten wird) begünstigt werden.

Die freigesetzte Glukose kann nicht nur durch die Lactobakterien sondern auch durch Hefen vergoren werden. Aus der Einwirkung der Lactobazillen resultiert ein pH zwischen 3,8 und 4,5. Physiologisch wird dieser Säureschutz während jeder Menstruation durch den alkalischen Sekretstrom, der aus dem Uterus abfließt, gefährdet (12).

Candida-Infektionen der Vagina werden bei noch nicht geschlechtsreifen Mädchen nur äußerst selten beobachtet; sie werden meist durch Fremdkörper verursacht. Der fehlende Glykogengehalt der Mucosa vaginalis scheint der Grund für das nur geringe Vorkommen in dieser Altersgruppe zu sein. Ebenso ist bei Frauen jenseits der Menopause bisher nur in vereinzelten Fällen eine Candida-Kolpitis beschrieben worden. Sie soll sich hier als Folge einer Östrogentherapie entwickelt haben.

Bei 23 % der Patientinnen mit vaginaler Candidosis wurden gleichzeitig Trichomonaden nachgewiesen. Korte et al. (37) konnten beide Erreger bei 13 % und Siboulet (83) bei 10 bis 15 % der von ihnen untersuchten Frauen nachweisen.

Objektiv-klinische und subjektive Symptome fehlten bei unseren Untersuchungen in 16 % der Fälle mit massivem Soorbefall der Vagina,

Hirsch (29) gibt 20 % der Fälle an. Hinsichtlich der Bedeutung des Vorkommens von Hefen in der Scheide, die ohne Symptome verläuft, besteht keine einheitliche Auffassung.

Wenn Pilze in der Vagina vorkommen, muß eine Vaginalmykose im Sinne einer lokalen Erkrankung nicht immer die Folge sein. Dennoch sollte die Meinung, daß Sproßpilze zur normalen Hautflora gehören und "harmlose Saprophyten" seien, heute nicht mehr länger aufrecht erhalten werden (37). Jeder Nachweis von Hefen in der Vagina ist als Infektion oder Kontamination anzusehen, die sofort therapeutisch angegangen werden sollte. 82 % der Frauen klagten über lästigen Ausfluß und 36 % über subjektive Symptome. Eine Antibiotikabehandlung spielte im vorliegenden Untersuchungsmaterial eine unerhebliche Rolle.

In eingehenden Gesprächen war besonders von differenzierten Patientinnen zu erfahren, daß die häufig über lange Zeit andauernden Beschwerden wie Cohabitationsschmerz und ekelerregender Ausfluß zu einer gesteigerten Empfindlichkeit und zu Störungen der Vita sexualis geführt hatten. Das gute Einvernehmen der Ehepartner war so weit beeinträchtigt worden, daß sich als Ausdruck einer angebahnten Sexualneurose Frigidität eingestellt hatte.

5.2.: Diagnostik

5.2.1.: Mikroskopische Untersuchungen

51 von insgesamt 123 Abstrichen führten in der Kultur zum Nachweis von Hefen. Im mikroskopischen Präparat konnten jedoch nur 20-mal Hefezellen oder Pseudomyzel gefunden werden, wobei in jedem Falle auch positive Kulturergebnisse erhalten worden waren. Dies entspricht einer Häufigkeit von 40 %. Trotz der Mikroskopie von je 2 Präparaten, die nach Gram und Giemsa gefärbt waren, ließ sich kein besseres Ergebnis erzielen. Dies beweist, daß mikroskopisch allein keine ausreichende Diagnose gestellt werden kann, was auch von Spitzbart (88) bestätigt wird, der nur in 33 % aller Candida-Kolpitiden mikroskopisch Hefezellen fand. Zu ähnlichen Resultaten kam auch Rieth(73). Liegen zum Zeitpunkt der Untersuchung keine sprossenden Hefezellen bzw. Pseudomyzel vor, ist die Identifizierung meist nur zufällig. Aus diesem Grunde muß gefordert werden, daß besonders bei negativem mikroskopischem Befund zur Sicherung der Diagnose eine Kultur angeschlossen wird. Das gilt erst recht für solche Verlaufsformen, bei denen nur eine Rötung des Epithels mit entsprechenden Beschwerden zu verzeichnen ist.

Wie weiter in der gynäkologischen Praxis festgestellt wurde, kann eine Verfälschung der Ergebnisse auftreten, wenn bereits in der zur Färbung der Präparate benutzten Methylenblaulösung Pilze wachsen.

Um ein Wachstum zu verhindern, sollte eine schwache Phenollösung, die genügend wirksam ist, zugegeben werden. Leifson empfahl diesen Zusatz zu Fuchsin für die nach ihm benannte Methode der Geiselfärbung (44).

Die stetige Zunahme des "Vaginalsoor" und seine langwierigen Krankheitserscheinungen nicht nur bei den Patientinnen sondern auch bei Partnern und Neugeborenen, zwingen zu einer gezielten Behandlung, die nur erfolgreich sein kann, wenn neben der makroskopischen und mikroskopischen Diagnostik Kulturuntersuchungen durchgeführt werden.

5.2.2.: Kulturuntersuchung

Die Aufnahme mikrobiologisch-diagnostischer Untersuchungen in die Routine einer ärztlichen Praxis war aus technischen Gründen bisher nur in wenigen Fällen möglich. Für die Diagnostik der vaginalen Candidosis ist Nickerson's Medium(R) als gebrauchsfertiger Nährboden in den Handel gekommen, der ohne Aufwand und besondere mikrobiologische Schulung eine exakte Bestimmung der Gattung Candida erlaubt. Dieses Medium erlaubt nach den vorliegenden Untersuchungen eine sichere Bestimmung von Candida, wobei Übereinstimmung mit anderen Autoren besteht. Bei einem Vergleich mit Biomalzagar versagte es nur in einem von 50 positiven Fällen. Da jeweils 2 Abstriche von einer Patientin entnommen wurden, ist es unsicher, ob das negative Resultat nicht durch verschiedene Hefe-

konzentrationen auf den Tupfern hervorgerufen wurde.

Das Vorliegen von Hefen der Gattung Candida wird auf Nickerson's Medium über die Braunfärbung der Kolonien abgelesen. Nach unserer Erfahrung tritt die Verfärbung nach Bebrütung bei Zimmertemperatur innerhalb von 2 bis 5 Tagen ein. Wir fanden nur in 1 von 50 Fällen eine Braunfärbung erst nach 10 Tagen. Hierbei handelte es sich um Candida parapsilosis, eine Art, die generell langsamer wächst und nur selten bei Candidosis vorkommt. Zu dem gleichen Ergebnis kam auch Roser, der eine Bebrütungszeit von ca. 10 Tagen empfahl (78).

Allen gefundenen Hefen der Gattung Candida muß nach den Untersuchungen von Kalkoff und Janke (33) eine klinische Bedeutung zugeschrieben werden, während über eine mögliche Pathogenität der Gattung Rhodotorula noch Unklarheit herrscht (74, 88).

Die selektive Wirkung von Nickerson's Medium ist gut. Es hemmt weitgehend das Wachstum von Begleitkeimen, so daß sich gut abgegrenzte Hefekolonien ausbilden können. Somit ist ohne weitere Überimpfungen rasch eine Typisierung der Candida-Art möglich (78), da Bakterien bzw. andere Hefearten keinen braunen Farbstoff bilden.

Auch bei einigen Untersuchungen anderer Proben (Rachenabstrich, Urinsediment, Sputum) wurden nur braune Kolonien erhalten, wenn

Candida vorlag.

Bei den Arbeiten mit Pilzen in der ärztlichen Praxis ist bei der Verwendung von konventionellen Medien häufig mit der Verunreinigung durch in der Luft vorhandene Schimmelpilzsporen zu rechnen. Schimmelpilze können in 2 - 3 Tagen alle Hefen überwuchern und eventuell auch durch ihre Stoffwechselprodukte das Wachstum der Hefen stören oder ganz unterdrücken. Eine Verunreinigung von Nickerson's Medium konnte nicht beobachtet werden, da es ein schlechteres Nährsubstrat für Schimmelpilze bietet.

Ein weiterer Vorteil des Nickerson-Mediums (R) gegenüber den bisher üblichen Verfahren ist darin zu sehen, daß Ab- und Ausstrich vom behandelnden Gynäkologen in einem Arbeitsgang durchgeführt werden kann. Es entfällt der Versand an ein Laboratorium und die etwa 4 Tage dauernde Untersuchung, außerdem ist die Zeit bis zur Mitteilung des Ergebnisses verkürzt.

Für die Verwendung von Nickerson's Medium$^{(R)}$ in den Behandlungsräumen des Arztes ergibt sich eine Schwierigkeit aus hygienischer Sicht, da größere Mengen fakultativ pathogener Mikroorganismen angezüchtet werden. Der Arzt sollte die Verpflichtung übernehmen, für eine einwandfreie hygienische Beseitigung der Kulturen Sorge zu tragen. Nach der Endablesung können die Röhrchen z.B. nach Abschrauben des Verschlusses in Desinfektionslösung gelegt werden. Ein anderer Weg bietet sich durch die das Medium vertreibende Firma an, die die gebrauchten Röhrchen bei der Neubelieferung einsammelt und einer zentralen Sterilisation zuführt.

Wenn der Abstrich mit einem Watteträger erfolgt, sollte dieser in jedem Fall vor seiner Beseitigung 12 Stunden lang in eine 5%-ige Formalin- oder sonstige fungizide Lösung getaucht werden.

Schließlich soll noch darauf hingewiesen werden, daß eine Candidosis niemals aufgrund einer einzigen, negativen Kultur auszuschließen ist. Dies kann erst geschehen, wenn zwei negative Ergebnisse, die mindestens eine halbe Woche auseinanderliegen, vorliegen und die klinischen Symptome einer Candidosis vollkommen abgeklungen sind.

5.3.: Testung der Antimykotika Clodantoin, Benzalkoniumchlorid und Sporostacin$^{(R)}$.

Der Röhrchenverdünnungstest zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration von Clodantoin ergab, daß das Wachstum der Hefen in einem Konzentrationsbereich von 0,5 bis 6 µg/ml bei einem pH von 5,2 gehemmt wurde. Ähnliche Ergebnisse werden auch von Kupferberg und Doscher (40) erhalten, die folgende MHK angeben: Candida albicans 3 µg/ml, Geotrichum candidum 10 µg/ml und Cryptococcus neoformans 17 µg/ml bei einem pH von 7,0. In eigenen Versuchen machten vier Stämme eine Ausnahme: Zwei Stämme von Candida tropicalis und jeweils einer von Candida krusei sowie Mucor ramannianus, die jeweils bis zu 16 µg/ml benötigten. Selbst die höchste Konzentration (20 µg/ml) an Clodantoin hatte keine Wirkung auf Aspergillus fumigatus. Man muß annehmen, daß die hohe Konzentration von Clodantoin in der Creme auch bei einem weniger sauren Vaginal-pH die therapeutisch

gewünschte Wirksamkeit bei den in der klinischen Praxis am häufigsten gefundenen Hefestämmen gewährleistet.

Die MHK von Clodantoin, eingestellt auf verschiedene pH-Werte in ungepufferter Nährlösung, ließ keine eindeutige Tendenz erkennen, weil sich der pH-Wert, wie Kontrollmessungen nach 48-stündiger Bebrütung ergaben, zum Sauren hin verschoben hatte. Aus diesem Grunde wurden die Versuche in einem gepufferten Milieu wiederholt. Die Pufferkapazität des benutzten Citratpuffers war ausreichend, um ein Absinken des pH-Wertes zu vermeiden. Mit fallender Wasserstoffionenkonzentration war jetzt ein Anstieg der MHK für Clodantoin verbunden, was auch von anderen Autoren beschrieben worden ist (40).

Benzalkoniumchlorid wirkte in der Regel bei einer Konzentration von 300 µg/ml hemmend auf das Wachstum der Pilze. In einer anderen Arbeit (40) wird ein ähnlicher Wert (333 µg/ml) angegeben. Nur Aspergillus fumigatus und Mucor ramannianus konnten entweder erst durch eine höhere Konzentration oder gar nicht an der Vermehrung gehindert werden.

Ein starker synergistischer Effekt ergab sich, wenn Clodantoin zusammen mit Benzalkoniumchlorid getestet wurde. So konnte bereits vollständige Hemmung erreicht werden, wenn 0,5 µg/ml Clodantoin

und 40 µg/ml Benzalkoniumchlorid im Lösungsansatz vorlagen. Kupferberg und Doscher (40) fanden als Wirkungsoptimum für Clodantoin 0,5 µg/ml und für Benzalkoniumchlorid 33 µg/ml. Ausnahmen bildeten in unseren Versuchen lediglich Aspergillus fumigatus und Cryptococcus neoformans; die fungistatische Wirkung trat hier erst bei 50 µg/ml Benzalkoniumchlorid ein.

Die Bestimmung der MHK von der Vaginalcreme Sporostacin(R) gestaltete sich etwas schwieriger, da die Salbensuspension nach Zugabe zur synthetischen Nährlösung ausflockte. Offensichtlich wurde das elektronegative Salbenkolloid durch die hohe Konzentration der lyotropen Kationen Na, K, Ca und Mg der Nährflüssigkeit ausgefällt. Ein Lösungsvermittler (Tween 80) konnte zwar die Ausfällung verhindern, führte jedoch zu einer Erhöhung der MHK. Die Wiederholung des Versuches in einer salzarmen Nährlösung zeigte, daß Clodantoinkonzentrationen von 25 µg/ml und Benzalkoniumchloridmengen von 1,2 µg/ml ausreichten, um alle getesteten Hefen und Pilze zu hemmen. Tween 80 dürfte im Vorversuch durch einen antagonistischen Effekt auf die quaternäre Verbindung die fungistatische Wirkung weitgehend aufgehoben haben. Eine ähnliche Inaktivierung von 0,1 % Tween 80 auf Cetylpyridiniumchlorid ist bekannt (93).

6. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 193 Patientinnen, die die gynäkologische Ambulanz wegen einer Vaginitis aufsuchten, wurde in 50 Fällen (= 26%) eine Candidosis diagnostiziert. 54 % der betroffenen Frauen waren zwischen dem 25. und 34. Lebensjahr, 18 % jünger und 28 % älter. 23 % von ihnen litten gleichzeitig an einer Trichomonaden-Infektion. Objektive und subjektive Symptome fehlten in 16 % einer massiven Candida-Besiedlung der Vagina. Bei 16 % der untersuchten Patientinnen wurde eine Trichomoniasis diagnostiziert. Hier lag der Gipfel der Infektion in der Altersverteilung zwischen 20 und 45 Jahren.

Die mikroskopische Untersuchung der Abstriche von 193 Patientinnen nach Gram- und Giemsafärbung erbrachte in 20 Fällen das Vorliegen von Hefen. Dies entspricht einer Ausbeute von nur 40 % im Vergleich zur Kultur. Als exakte Methode der Diagnostik kann daher nur die Kultur angesehen werden.

Die Diagnostik über die Kultur, kann durch die Verwendung selektiver Indikatormedien beträchtlich erleichtert werden. Hierzu zählt das Nickerson-Medium, das sich nach den vorliegenden Untersuchungen durch hohe Spezifizität und Sensibilität (62) gegenüber den verschiedenen Candida-Arten auszeichnet. Alle klinisch relevanten Arten der

Gattung Candida bilden auf dem Medium nach 1 bis 5 Tagen braunschwarz gefärbte Kolonien. Vergleichende Untersuchungen mit einem in der Pilzdiagnostik üblichen Medium erbrachten die gleiche Zahl von positiven Fällen.

Nur die selten vorkommende Art Candida parapsilosis ergab erst nach 10 Tagen eine eindeutig positive Reaktion. Folgende Hefen wurden aus der Vagina isoliert: 31 x Candida albicans (= 60 %), 5 x Candida tropicalis (= 10 %), 4 x Candida stellatoidea (= 8 %), 4 x Candida krusei (= 8 %), und 3 x Candida guilliermondii, 2 x Candida pseudotropicalis, 1 x Candida parapsilosis, 1 x Rhodotorula rubra (zusammen = 14 %). Die Gattung Rhodotorula wuchs in schwach rosa-weißen Kolonien. Andere menschenpathogene Hefen und einige Bakterien ergaben auf Nickerson's Medium keine Braunfärbung. Mit Hilfe des Mediums ist daher auch vom mykologisch ungeschulten Gynäkologen eine sichere und exakte Diagnose der vaginalen Candidosis zu stellen.

Die in-vitro Versuche zur Testung der Antimykotika haben bestätigt, daß Clodantoin in Konzentrationen von 0, 5 bis 4 µg/ml auf klinisch relevante Hefestämme antimykotisch wirkt. Im gleichen Konzentrationsbereich werden Trichosporon capitatum und Trichosporon cutaneum, Rhodotorula mucilaginosa, Rhodotorula rubra, Cryptococcus neoformans und Geotrichum candidum im Wachstum gehemmt.

Ausnahmen bilden Aspergillus fumigatus und Mucor ramannianus, die nicht oder erst durch höhere Konzentrationen an weiterem Wachstum gehindert wurden.
Der Effekt von Clodantoin ist pH-abhängig; er nimmt mit sinkendem pH-Wert zu. Die MHK lag bei einem pH von 4, 5 bei 1 µg/ml und bei einem pH von 7 bei 4 µg/ml.

Benzalkoniumchlorid zeigte nur eine geringe Hemmwirkung. Bis zu 500 µg/ml wurden hier benötigt. Aspergillus fumigatus wuchs auch nach 48-stündiger Bebrütung noch weiter.

Der in den vorliegenden Versuchen bestätigte Synergismus von Clodantoin und Benzalkoniumchlorid sowie die gute Wirksamkeit von Verdünnungen der Creme im in vitro-Test berechtigen zu der Schlußfolgerung, daß Sporostacin(R) - vom mikrobiologischen Standpunkt aus betrachtet - für die Therapie der Vaginalmykosen gute Voraussetzungen bietet.

Dieser Feststellung entsprechen die therapeutischen Erfolge, die in zahlreichen klinischen Einsätzen bereits mit Sporostacin(R) erzielt wurden (7, 13, 23, 42, 57, 61).

7. ANHANG

Rezeptsammlung

Würze-Medium für Pilze

Handelsübliches Biomalz (ohne Zusätze) wird in etwa 100 ml A. dest gelöst, auf 1,025° Bé gespindelt und dann 18 g Oxoid-Agar zugesetzt. Anschließend wird bei 1,0 Atü und 121°C 15 Minuten autoklaviert.

Reisagar

Reis (Brühreis)	20 g
Agar-Agar (Oxoid Nr. 3)	13 g
Aqua dest.	1000 ml

Reis mit Wasser 45 Min. Kochen, filtrieren, das Filtrat auf 1000 ml auffüllen, Agar-Agar hinzugeben und autoklavieren.

Gorodkowa-Agar für sporenbildende Hefen (Lodder u. Kreger van Rij, 46)

Glukose	1 g
Pepton	10 g
Na Cl	5 g
Agar-Agar	30 g
Aqua dest.	1000 ml

Medium zum Nachweis von Cryptococcus
(Lodder u. Kreger - van Rij, 46)

$(NH_4)_2\ SO_4$	1,0 g
KH_2PO_4	1,0 g
$MgSo_4 . 7H_2O$	0,5 g
Glukose	10,0 g
Agar-Agar	25,0 g
Aqua dest.	1000,0 ml

Nach Einstellung der Lösung auf pH 4,5 und Autoklavieren einen Tropfen sterile Vitaminlösung zusetzen. Nachweis der Stärkeproduktion durch Hefen mit Lugol' scher Lösung nach 2 bis 3 Wochen.

Vitaminlösung

Biotin	2 mg
Nicotinsäure	20 mg
Thiamin	10 mg
p-Aminobenzoesäure	10 mg
Pantothensäure	5 mg
Pyridoxamin	50 mg
Cyanocobalamin	20 mg
H_2O	1000,0 ml

steril filtrieren, in kleinen Mengen abfüllen und einfrieren.

Flüssiges Nährmedium zur Vergärung verschiedener Zucker

(Lodder und Kreger-van Rij, 46)

Hefeextrakt	10 g
Aqua dest.	1000 ml

Geprüft werden folgende Zucker:

Glukose	20 g
Galaktose	
Saccharose	
Maltose	
Lactose	

Die Lösung wird in Reagenzgläser zu 10 ml abgefüllt, Gärröhrchen eingelegt und autoklaviert.

Nährmedium zur Assimilation verschiedener Zucker

(Lodder u. Kreger-van Rij, 46)

$(NH_4)_2SO_4$	5,0	g
KH_2PO_4	1,0	g
$MgSO_4 . 7H_2O$	0,5	g
gewaschener Agar-Agar	20,0	g
Aqua dest.	1000,0	ml

Zugesetzt wird 20 g des zu prüfenden Zuckers:

Geprüft werden:

Dextrose, Galaktose, Laktose, Maltose, Saccharose.

Das Agar-Grundsubstrat, das keine Kohlenhydrate enthält,

wird verflüssigt, auf 40°C abgekühlt und mit der zu prüfenden Hefesuspension vermischt in eine Petrischale gegossen. Nach Erstarren des Mediums werden 6 sterile Fließpapierstreifen, die in 5 verschiedenen Zuckerlösungen eingetaucht sind (ein Streifen bleibt leer und dient als Kontrolle) auf den Agar gelegt. Nach 2 bis 5 Tagen entstehen bei Verwertung des Zuckers eine deutliche Trübung infolge Vermehrung der Hefen (39, 80).

Synthetische Nährlösung

(Lodder u. Kreger-van Rij, 46)

$(NH_4)_2So_4$	5,0 g
KH_2PO_4	1,0 g
$MgSo_4 . 7H_2O$	0,5 g
$CaCl_2 . 2H_2O$	0,1 g
NaCl	0,1 g
Glukose	0,5 g
Aqua dest.	1000,0 ml

Zusatz von 1 ml konzentrierter Vitaminlösung pro 100 ml Nährlösung.

Die konzentrierte Vitaminlösung enthält 1000 ml Aqua dest.:

Biotin	0,2 mg
Calciumpantothenat	40,0 mg
Inositol	200,0 mg

Niacin	40,0 mg
P. Aminobenzoesäure	20,0 mg
Pyridoxinhydrochlorid	40,0 mg
Thiamin-hydrochlorid	40,0 mg
Riboflavin	20,0 mg

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. Alteras, I., Grigoru, D., Lazar, M., Porojan, I. et Gavrilescu, M.:
"Accidents à Candida des traitements par le flagyl."
DERMATOLOGICA (Basel) 131 (1965): 309

2. Behrmann, H.T.:
"Pruritus vulvae due to Aureomycin."
J.A.M.A. 144 (1950): 995

3. Bernhardt, H.:
"Zum Vorkommen von Hefepilzen im Magen des Menschen."
MYKOSEN 11 (1968): 799-806

4. Beveridge, M.M.:
"Local fungicide used concomitantly with "Flagyl" in trichomonal infection."
BRIT.J.VENER.DIS. 40 (1964):198

5. Bordácova, J.:
"Beitrag zur Bewertung der bakteriellen Scheidenmikroflora."
ZBL.F.BAKT.ORIG. 199 (1966):225-233

6. Bourg, R.:
"Clinical and microscopical aspects of vaginal monilia infestation".
BULL.SOC.ROY.BELGE GYNEC.OBSTET. 34/2 (1964): 97-116

7. Breen, J.L.:
"A new fungicidal compound in treatment of vaginal Candidiasis"
OBST. AND GYN. 17, No. 1 (1961):112-114

8. Bret, J. et Coupe, C.:
"Vaginites et infection neónatale. Étiologie des mycoses du nouveauné."
PRESSE MÉD. 66 (1958):937

9. Bump, C.M. and Kunz, L.J.:
"Routine identification of yeasts with the aid of Molybdate-Agar Medium."
APPL. MICROBIOLOGY 16 (1968):1503

10. Campbell, C.C. and Saslaw, S.:
"Enhancement of growth of certain fungi by Streptomycin."
PROC. SOC. EXPER. BIOL. & MED. 70 (1949):562

11. Carter, F.B., Jones, C.P., Creadick, R.N. Parker, R.T. and Turner, V.:
"The vaginal fungi."
ANN. NEW YORK ACAD. SC. 83 (1959): 265-279

12. Catterall, R.D.:
"Candida albicans and the contraceptive pill."
LANCET (1966):830-831

13. Clow, L.R.:
"A new agent for the treatment of vaginal Candidiasis."
CANADIAN MED. ASS. J. 86 (1962): 449-450

14. Colowick, S.P. and Kaplan, N.O.:
"Methods in Enzymology."
ACADEMIC PRESS. INC. 1 (1955):141

15. Cross, W.G.:
"Oral reactions to penicillin."
BRIT. M.J. 1 (1949): 171

16. Csonka, G.W.:
"Long term aspect of treatment with metronidazole in trichomonas vaginitis."
BRIT. J. VENER. DIS. 39 (1963):258

17. De Gavaller, B.
"Monialiasis en los recien nacidos."
REV. OBSTET. Y GINEC. 13 (1953):203

18. Domagk
"Eine neue Klasse von Desinfektionsmitteln."
DMW 61 (1935): 829-832

19. Editorial:
"Moniliasis"
LANCET 1 (1952):1247

20. Editorial:
"Moniliasis"
LANCET 1 (1952):1247

21. Editorial:
"Vaginal discharge."
J.A.M.A. 156 (1954):991

22. Foley, G.E. and Winter, W.D. Jr.:
"Increased mortality following penicillin therapy of chick embryos infected with candida albicans var. stellatoidea."
J. INFECT. DIS. 85 (1949):263

23. Garard, H.F.:
"The treatment of cutaneous Moniliasis with Chlordantoin."
MEDICAL TIMES Nov. (1962) :1243-1249

24. Gaudefroy, M. et Viart., P.:
"Influence des antibiotiques sur la recrudescence actuelle des vaginites mycosiques."
AMN. BIOL. CLIN. 13 (1955):113

25. Geiger, A.J., Wenner, H.A., Axilrod, H.D. and Durlacher, S.H.:
"Mycotic endocarditis and meningitis."
YALE J. BIOL. & MED. 18 (1946):259

26. Girotti, M. and Hauser, F.A.:
"Klinik des Fluor vaginalis."
THERAP. UMSCHAU 25 (1968):308-314

27. Hantschke, M.:
"Ein Colistin-Novobiocin-Actidion-Agar als Anzuchtmedium für humanpathogene Pilze."
MYKOSEN 11 (1968):769-778

28. Harris, H.J.:
"Aureomycin and Chloramphenicol in brucellosis."
J.A.M.A. 142 (1950): 161

29. Hirsch. H.H.:
"Soor-Infektionen von Vagina und Vulva."
Sonderdruck aus PRAXIS-KURIER 11 (1968)

30. Hutchison, M.K.:
"Moniliasis, a complication of antibiotic therapy."
J.KANSAS M. SOC. ET CHEMOTHERAPIA, Fortschr. I. p. 235, Basel / New York, 1954, S. Karger

31. Jeanes, E.H.:
"Mycotic vulvitis".
J. OBSTET. GYNEC. BRIT. EMP. 67 (1960):
328-331

32. Kaffka, A.:
"Tellurithaltige Serum-Nährmedien zur Differenzierung von Candida albicans."
ZBL. BAKT. I. Abt. Orig. 165 (1956):264-274

33. Kalkoff, K.-W. und Janke, D.:
"Mykosen der Haut"
Gottron, H. und Schönfeld, W.:
Dermatologie und Venerologie. 2 , Teil 2
THIEME VERLAG (1958)

34. Kimmig, J. und Wehrmann, R.:
"Chemotherapie der Pilzerkrankungen"
INTERNIST 11 (1968): 439-448

35. Kittleson, A.R.:
"A new class of organic fungicides."
SCIENCE 115 (1952): 141-143

36. Koch, H., Rieth, H. und Rüther, E.:
"Beitrag zur Diagnose, Klinik und Therapie der genitalen Candidamykosen."
HAUTARZT 10 (1959): 393-397

37. Korte, W. und Behler, R.:
"Pathologie und Klinik der Vaginalmykose."
FORTSCHR. D. MED., Sonderdruck (1966):13-15

38. Kuhn, R. und Bielig, H.J.:
BER. DTSCH. CHEM. GES. 73 (1940): 1080

39. Kunz, C.:
"Eine vereinfachte Methode zur Prüfung der KH-Assimilation von Hefen."
ZBL. BAKT. ORIG. 171 (1958):334-335

40. Kupferberg, A.B. and Doscher, G.E.:
"The antifungal activity of 3-Trichlormethylthio-5-(-1-ethylamyl)-hydantoin (Chlordantoin)."
ANTIBIOTICS & CHEMONTHERAPY 11 (1961):73-78

41. Lachenit, P., Siepe, E.M. und Potel, J.:
"Die Bedeutung von Hefeinfektionen und -erkrankungen für Gynäkologie und Geburtshilfe."
GEBURTSHILFE UND FRAUENHEILKUNDE, Sonderdruck 4 (1967): 3-12

42. Lapan, B.:
"A new agent for the treatment of vaginal candidiasis."
AM. J. OBST. AND GYN. 78 No. 6 (1959): 1320-1323

43. Lee, A.F. and Keifer, W.S.:
"Vaginal discharge."
NORTHWEST. MED. 53 (1954):1227

44. Leifson, E.:
"Atlas of bacterial flagellation."
ACADEMIC PRESS, New York and London (1960)

45. Lipnik, M.J., Kligmann, A.M. and Strauss, R.:
"Antibiotics and fungous infections."
J. INVEST. DERMAT. 18 (1952): 247

46. Lodder, J. and Kreger - van Rij, N.J.W.:
"The yeasts. A taxonomic study."
NORTH-HOLL. PUBL. COMP., Amsterdam (1952)

47. Lutz, A., Grotter, O. et Witz, M.A.:
"Étude sur des champignons levuriformes du genre Candida-leur fréquence - l'action de la Mycostatine et de la Trichomycine."
REV. d'IMMUNOL. 21 (1957):237

48. Male, O.:
"Zur Differenzierung der Hefen im mykologischen Labor."
Schirren, C. und Rieth, H.: "Hefepilze als Krankheits-erreger bei Mensch und Tier."
SPRINGER (1963): 5-6

49. Malicke, H.:
"Welche Rolle spielen Hefepilzinfektionen bei Schwangeren und Neugeborenen?"
MED. WELT (1964):1725

50. Mc. Govern, J.J., Parrot, R.H., Emmons, C.W., Ross, S., Burke, F.G. and Rice, E.C.:
"The effect of Aureomycin and Chloramphenicol on the fungal and bacterial flora of children."
NEW ENGLAND J. MED. 248 (1953):397

51. Mc Vay, L.V. and Sprunt, D.H.:
"A study of moniliasis in Aureomycin therapy."
PROC. SOC. EXPER. BIOL. & MED. 78 (1951): 759

52. Mehnert, B. and Mehnert, H.:
"Yeasts in urine and saliva of diabetic and nondiabetic patients."
DIABETES 7 (1958): 293-297

53. Moore, M.:
"in vivo and in vitro effect of aureomycin-hydrochloride on Syringospora (Monilia, Candida) albicans."
J.LAB. & CLIN. MED. 37 (1951): 703

54. Mountain, D.C.:
"Oral undecylinic acid in the prevention of the so-called monilial complications secondary to the use of Aureomycin, Chloramphenicol and Terramycin."
AM. J.M. SC. 225 (1953):274

55. Mrozowski, J. and Thiery, M.:
"Over de aanwezigheid van candida soorten op de vulva en in de schede."
BULL. SOC. ROY. BELGE GYNEC. OBSTET. 37 (1967):225-241

56. Munoz, J. and Geister, R.:
"Inhibition of phagocytosis by Aureomycin."
PROC. SOC. EXPER. BIOL. & MED. 75 (1950): 367

57 Nathanson, E.A.:
"A new and effective treatment of vaginal candidiasis."
OBSTET. & GYNECOL. 16 (1960): 601

58. Nickerson, W.J.:
"Reduction of inorganic substances by yeasts."
Extracellular reduction of sulfite by species of Candida.
J. INFECTIONS DIS. 93 (1953):43-56

59. Nickerson, W.J., Taber, W.A. and Falcone, G.:
"Physiological bases on morphogenesis in fungi."
5. Effect on selenite and tellurite on cellular division of yeast like fungi."
CANAD. J. MICROBIOL. 2 (1956): 575-584

60. Nußbaum, H.:
"Theorie und Praxis eines modifizierten Wismutsulfitagars zur Schnelldiagnose der Candida."
Vortrag vor der deutschsprachigen mykolog. Gesellschaft am 4.6.1971 in Frankfurt

61. O'Brian, J.R.:
"Clinical trials with agents curently used in the management of vaginitis."
CANAD. MED. ASS. J. 90 (1964):1206

62. O'Brian, J.R.:
"Nickerson's Medium in the diagnosis of vaginal moniliasis."
CANAD. MED. ASS. J. 90 (1964): 1073-1074

63. Pace, H.R. and Schantz, S.J.:
"The changing incidence of monilial Vaginitis."
MONOGR. THER. 2 (1957): 29

64. Paine, T.F.:
"In vitro experiments with monilia and escherichia coli to moniliasis in patients receiving antibiotics."
ANTIBIOTICS & CHEMOTHERAPY 2 (1952): 653

65. Paldrock, H.:
"Dibenzthion, ein Mittel gegen Hautmykosen."
SÄRTRYCK UR SVENSKA, LÄKARTIDNINGEN 61 (1964): 2922

66. Pappenfort, R.B. and Schmall, E.S.:
"Moniliasis in patients treated with Aureomycin."
ARCH. INT. MED. 88 (1951): 799

67. Perl, G., Guttmacher, A.F. and Jakubowicz, H.:
"Vaginal Candidiasis, a new method of diagnosis and treatment."
AM.J.OBST. & GYNEC. 5 (1955):640-644

68. Pschyrembel, W.:
"Kolpitis und Fluor."
AUSZUG AUS HEILKUNST 224 (1963)

69. Raab, W.:
"Zur Behandlung der Trichomonadeninfektion."
THERAPIE DER GEGENWART 7 (1969): 967-974

70. Recoules, A.:
"Les exsudats vaginaux examen biologique en pratique courante."
ANN. BIOL. CLIN. 26 (1968): 231-240

71. Rhoads, P.S.:
"Hazards of antibiotic therapy."
ARCH. INT. MED. 90 (1952):731

72. Rieth, H.:
"Probleme des Nachweises von Hefepilzen in menschlichem Untersuchungsmaterial, ihrer Isolierung und Identifizierung."
MYKOSEN 9 (1968): 657-658

73. Rieth, H.:
"Antimykotika."
HANDBUCH D. HAUT- U. GESCHLECHTSKRANKHEITEN V, 1 (1963): 1147

74. Rieth, H. und Schönfeld, J.:
"Zur Diagnostik und Therapie der Mykosen durch imperfekte Hefen (Cryptococcaceen)."
ARCH. KLIN. EXP. DERM. 208 (1959): 343-361

75. Rimbaud, P. et Rioux, J.A.:
"La candidose génitale de l'homme maladie vénérienne méconnue."
MONTPELLIER MED. SER. 3, 101 (1958): 757-764

76. Rimbaud, P. et Rioux, J.A.:
"Une nouvelle maladie vénérienne: la ballanoposthite à Candida albicans."
MINERVA DERM. (TORINO) 34 (1959): 438-441

77. Romero, J.:
"Los medios prácticos para el diagnostico de la candidiasis genital."
REG. ESP. OBSTET. GINEC. Lat.-amer. 18 (1959): 169-171

78. Roser, H.:
"Bakteriologische Diagnostik von Candida-Erkrankungen auf Nickerson's Medium."
MED. WELT 25.4.70:792-793

79. Rüther, E., Rieth, H. und Koch, H.:
"Die Bedeutung der Candidamykosen (Moniliasis) für Gynäkologie und Geburtshilfe."
GEBURTSH. u. FRAUENHEILK. 18 (1958): 22-35

80. Schabinski, G.:
"Grundriss der medizinischen Mikrobiologie."
VEB GUSTAV FISCHER VERLAG, JENA (1960)

81. Seligmann, E.:
"Virulence enhancing activities of Aureomycin on candida albicans."
PROC. SOC. EXPER. BIOL. & MED. 79 (1952):481

82. Seligmann, E.:
"Virulence enhancement of candida albicans by antibiotics and cortisone."
PROC. SOC. EXPER. BIOL. & MED. 83 (1953):778

83. Siboulet, A.:
"Les syndromes uro-génitaux à trichomonas vaginalis et à Candida albicans. Résultats du traitement par l'alpha-thenoylamino-2nitro-5 thiazole."
PRESSE MED. 71 (1963): 2779-2780

84. Silva, N.N. De und Soldan, W.:
"Vulvovaginale Mykosen und Häufigkeit von Pilzen."
REV. GYNEC. (Rio de Janeiro) 101 (1960): 1101-1108

85. Skobel, P.:
"Zum Problem der endogenen Mykosen unter besonderer Berücksichtigung der Erreger der Candidagruppe."
Z.INN. MED. 11 (1956): 89-94

86. Smith, H. G.:
"On the nature of the selective action of selenite broth."
J. GEN. MICROBIOL. 21 (1959): 61-71

87. Söltz-Szöts, J. und Thurner, J.:
"Sproßpilzinfektion des männlichen und weiblichen Genitale."
ZSCHR. HAUT- U. GESCHL.-KRKH. 44, 16 (1969): 545-548

88. Spitzbart, H.:
"Die Beweiskraft des bakterioskopischen Bildes bei der Vaginalmykose."
MYKOSEN 11 (1968): 457-458

89. Spitzbart, H.:
"Die Häufigkeit der Vaginalmykosen bei Schwangeren und Wöchnerinnen."
ZBL. GYNÄKOL. 82 (1960): 523

90. Stadler, G. C. und Polemann, G.:
"Der Soor (Candidiasis) des weiblichen Genitale und seine Behandlung."
THERAP. UMSCHAU 10 (1960): 352-358

91. Staib, F.:
"Ein Beitrag zur Mikrobiologie von Trichosporon cutaneum bei Verwendung von Kaliumtellurit."
ZBL. BAKT. II. Abt. 112 (1959): 38-42

92. Stormont, R. T.:
"Warning statement to be included in Aureomycin-hydrochloride, Chloramphenicol and Terramycin-hydrochloride labeling."
J.A.M.A. 145 (1951): 1267

93. Wallhäußer, K.H. und Schmidt, H.:
"Sterilisation, Desinfektion, Konservierung, Chemotherapie."
GEORG THIEME VERLAG Stuttgart (1967)

94. Walsh, H. Hildebrandt, R.J. und Prystowsky, H.:
"Oral progestional agents as a cause of Candida vaginitis."
AM. J. OBST. & GYNEC. 101 (1968): 991-993

95. Wessler, S. und Browne, H.R.:
"Candida albicans (monilia albicans) infection with blood stream invasion; report of case with a strain clinically resistant to sulfonamide drugs and to penicillin in vitro."
ANN. INT. MED. 22 (1945): 886

96. Wynn, V. and Doar, J.W.H.:
"Some effects of oral contraceptives on carbohydrate metabolism."
LANCET II (1966): 715

97. Zaidman, H.:
"Mycoses vaginales. Recherche systématique par culture sur milieu de Nickerson-Cator."
CONCOURS MÉDICAL 87 (1965): 1603 - 1606

Herrn Professor Dr. R. Schweisfurth möchte ich für die Zuweisung dieses Themas und für das große Interesse, das er der Arbeit stets entgegenbrachte, sowie für die bei der Ausführung erwiesene Unterstützung, aufrichtig danken.

Herrn Professor Dr. W. Rindt (Universitäts-Frauenklinik Homburg / Saar) bin ich zu großem Dank verpflichtet für die Überlassung der Ausstriche sowie die Auswertung der Trichomonaden-Kolpitiden.

Die Firma CILAG-CHEMIE GmbH, Alsbach an der Bergstraße überließ mir freundlicherweise Nickerson's Medium und die Testsubstanzen.

LEBENSLAUF

Als Sohn des Hermann Josef Becker und seiner Ehefrau Hedwig, geborene Kappe, wurde ich am 11. Mai 1944 in Kleve am Niederrhein geboren.

Infolge der Kriegsereignisse zog meine Mutter mit meiner älteren Schwester und mir im August 1944 nach Giershagen im Kreis Brilon. Im Frühjahr 1948 wechselten wir unsere Wohnung von Giershagen nach Köln am Rhein. Hier besuchte ich von Ostern 1950 die Volksschule. Bei einem Wohnsitzwechsel meiner Eltern im Juli 1953 von Köln nach Bonn ging ich dort weiter zur Volksschule. Ab Ostern 1955 besuchte ich das staatliche Beethoven-Gymnasium in Bonn. Nachdem mein Vater eine neue berufliche Aufgabe im Saarland übernommen hatte, ging ich Ostern 1963 in die Unterprima des staatlichen Wirtschaftsgymnasiums in Saarbrücken, wo ich am 27. Februar 1965 das Zeugnis der Reife erwarb.

Mein gesamtes Studium absolvierte ich an der medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes. Dort fing ich im SS 1965 an, bestand am 22. Juli 1966 den naturwissenschaftlichen Teil der ärztlichen Vorprüfung und am 11. April 1969 die ärztliche Vorprüfung. Anschließend begann unter Leitung von Professor Dr. R. Schweisfurth die Ausführung der vorliegenden Dissertation. Während des SS 1972 legte ich das medizinische Staatsexamen ab.